

POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*ABELMOSCHUS MANIHOT* (L.) MEDIK) TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE DAN MALONDIALDEHYDE JARINGAN GINJAL TIKUS MODEL DIABETES MELITUS

Ahmad Fuadi¹, Juliet Tangka², Yoyon Arif Martino¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA), Malang, Indonesia

²Departemen Farmasi, Politeknik Kesehatan Manado, Kementerian Kesehatan, Manado, Indonesia

*Corresponding author email : yudi.purnomo@unisma.ac.id

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 Tel. (0341) 558959

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperglikemia pada Diabetes Melitus (DM) meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan berperan terhadap risiko komplikasi nefropati diabetik. Daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) berkhasiat sebagai antidiabetik dan antioksidan tetapi penelitian ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) untuk mencegah nefropati diabetik belum banyak dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek EEDGM terhadap kadar SOD dan MDA ginjal tikus model DM.

Metode: Tikus *Sprague dawley* jantan usia 4-6 minggu dikelompokkan menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan (n=25 ekor). Tikus DM dibuat dengan diet tinggi lemak-fruktosa (DTLF) dan streptozotocin (STZ) 25 mg/kgBB i.p multiple dose. Ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) diberikan per oral selama 4 minggu. Kadar SOD dan MDA ginjal diukur menggunakan *SOD rat kit* dan *MDA rat kit*. Hasil dianalisa dengan One Way Anova dilanjutkan dengan uji BNT ($p < 0,05$).

Hasil: Pemberian EEDGM dosis 800 mg/kgBB menghambat penurunan kadar SOD jaringan ginjal dengan persentase sekitar 60% dibandingkan KDM ($p < 0,05$). Pemberian EEDGM dosis 400 mg/kgBB menghambat peningkatan kadar MDA jaringan ginjal dengan persentase sekitar 20% dibandingkan KDM ($p < 0,05$). Induksi DTLF dan STZ menurunkan kadar SOD jaringan ginjal dengan persentase sekitar 40% dan meningkatkan kadar MDA jaringan ginjal dengan persentase sekitar 30%.

Kesimpulan: Pemberian EEDGM dapat menghambat penurunan kadar SOD dan peningkatan kadar MDA jaringan ginjal tikus model DM.

Kata Kunci : Diet tinggi lemak, diet tinggi fruktosa, streptozotocin, stress oksidatif, diabetes.

POTENSI OF ETHANOLIC EXTRACT OF ABELMOSCHUS MANIHOT (L.) MEDIK ON KIDNEY SOD LEVELS AND KIDNEY MDA LEVELS IN DIABETIC RAT MODEL

Ahmad Fuadi¹, Juliet Tangka², Yoyon Arif Martino¹, Yudi Purnomo^{1*}

¹Faculty of Medicine University of Islam Malang (UNISMA)

²Pharmacy Department, Manado Health Polytechnic, Ministry of Health, Manado

*Corresponding author email : yudi.purnomo@unisma.ac.id

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 Tel. (0341) 558959

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemic on Diabetes Mellitus (DM) increase the ROS production and risk of diabetic nephropathy complications. Red gedi leaves (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) are efficacious as an anti-diabetic and antioxidant, but the previous research about ethanol extract of red gedi leaves that used to prevent nephropathy complications has never been found. This study aims to know the effect of red gedi leave's ethanol extract to the level of SOD and MDA's Kidney in the diabetic rat model.

Methods: This study used the 4-6 weeks old Sprague Dawley male rats which were divided into two groups control and three groups treatments of the ethanol extract of red gedi leaves. The diabetic rats induced a high-fat fructose diet and 25 mg/kg BB of streptozotocin injection i.p with multiple doses. The rats were administrated orally ethanol extract of red gedi leaves for 4 weeks. SOD and MDA's kidney are measured by the SOD and MDA rad kit. Data analyzed by using one-way ANOVA analysis and LSD ($p < 0,05$).

Results: Ethanol extract of red gedi leaves dose 800 mg/kg BB inhibits the decreases levels of SOD rat kidney tissue around 60%. Ethanol extract of red gedi leaves dose 400 mg/kg BB inhibits the increases levels of MDA rat kidney tissue around 20% compared to KDM ($p < 0.05$). The high-fat fructose diet and streptozotocin induction decrease SOD kidney tissue's level around 40% and increase MDA kidney tissue's level around 30%.

Conclusion: Giving ethanol extract of red gedi leaves can inhibit the decrease in SOD levels of kidney tissue and inhibit the increase in MDA levels of kidney tissue.

Keywords: High-fat diet, high fructose diet, streptozotocin, oxidative stress, diabetes.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) dan komplikasinya masih menjadi salah satu permasalahan kesehatan di dunia¹. Prevalensi penderita DM selama beberapa dekade terakhir terus meningkat, yakni dari 108 juta pada 1980 menjadi 422 juta pada 2014. WHO juga menyebutkan prevalensi penderita DM dengan usia diatas 18 tahun telah meningkat 3,8% sejak tahun 2014¹. Komplikasi pada DM dapat terjadi pada tingkat sel serta pada semua jaringan, salah satunya adalah nefropati diabetik. Nefropati diabetik (ND) adalah kondisi kronis yang ditandai peningkatan ekskresi albumin dalam urin dan sering berakhir menjadi gagal ginjal stadium akhir². Di Amerika, sekitar 50% pasien dengan *End Stage Renal Disease* (ESRD) disebabkan oleh nefropati diabetik³. Di Asia 60% pasien diabetes mengalami nefropati diabetik sementara di Indonesia angka kejadian nefropati diabetik sekitar 20 - 40%² dengan angka kematian mencapai 20% pada pasien DM⁴.

Komplikasi nefropati pada penderita DM didasari oleh mekanisme stres oksidatif. Selanjutnya kondisi hiperglikemia pada DM dapat memicu terjadinya *hyperglycemic pseudohypoxia*⁵. Selain itu, kondisi hiperglikemia diketahui dapat menghambat aktivitas NADPH yang berperan penting dalam regenerasi antioksidan, salah satunya *Superoxide dismutase* (SOD)⁶. Konsekuensi akhir dari kondisi *hyperglycemic pseudohypoxia* adalah peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) serta penurunan kadar SOD yang akan memicu terjadinya stres oksidatif⁶. Stres oksidatif juga menimbulkan terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel dan menghasilkan produk akhir yaitu *Malondialdehyde* (MDA)^{7,8}. Kondisi stres oksidatif yang ditandai penurunan kadar SOD dan peningkatan kadar MDA menimbulkan kerusakan oksidatif jaringan yang berperan terhadap terjadinya nefropati diabetik. Penggunaan oral anti-diabetik (OAD) sering digunakan untuk mengendalikan kadar glukosa pasien DM dan mencegah komplikasinya, namun OAD masih memiliki efek samping obat yang tidak diinginkan. Hal tersebut mendorong pencarian sumber obat yang berasal dari bahan alam.

Salah satu tanaman herbal yang dapat dipakai sebagai pengobatan adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik). Daun gedi merah di manfaatkan oleh masyarakat Sulawesi sebagai obat tradisional antara lain untuk pengobatan kolestrol, sakit ginjal, tekanan darah tinggi, dan kencing manis⁹. Daun gedi merah mengandung senyawa aktif flavonoid seperti quercetin-3-o-robinobiosid, hyperin, isoquercetin, gossipetin-8-o-glukuronid, dan myricetin¹⁰. Berdasarkan penelitian Tandi dkk (2016), ekstrak daun gedi merah memiliki kandungan senyawa alkaloid dan saponin yang

mempunyai efek sebagai antidiabetes, sedangkan kandungan flavonoid pada daun gedi merah mempunyai efek sebagai antioksidan¹¹. Hingga saat ini penelitian tentang ekstrak etanol daun gedi merah untuk menghambat komplikasi nefropati pada diabetes melitus masih belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang potensi daun gedi merah untuk menghambat nefropati diabetik dengan mengamati kadar SOD dan MDA.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan *control group post test only design*. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari komite etik penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor No. 028-KEP UB tahun 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jantan galur *sprague dawley*. Usia tikus 4-6 minggu dengan berat badan sekitar 180-200 gram. Tikus dibedakan menjadi 5 Kelompok yaitu kelompok normal (KN), kelompok kontrol diabetes melitus (KDM) dan 3 kelompok ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB.

Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus

Pembuatan tikus model DM dilakukan dengan induksi diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) dan induksi streptozotocin (STZ). DTLF terdiri dari kuning telur (4%), minyak kambing (6,5%), minyak babi (6,5%), asam kolat (0,2 %) , pakan ayam (82,8%), dan air secukupnya yang diberikan 25 gram/hari setiap sore¹². Pemberian fruktosa 20% terdiri dari 200 ml fruktosa dicampur kedalam 1000 ml air¹³. Fruktosa diberikan 40ml/hari *ad libitum*. Induksi STZ dilakukan setelah memasuki minggu ke-4 pemberian DTLF, dengan STZ *low dose* sebanyak 25 mg/kgBB secara intraperitoneal *multiple dose*. Pengukuran kadar gula darah puasa dilakukan 72 jam pasca injeksi¹⁴.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah

Serbuk Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) diperoleh dari Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur, dengan surat keterangan determinasi nomer 074/193A /102.7/2020. Ekstraksi daun gedi merah menggunakan metode soxhletasi dengan serbuk daun gedi merah sebanyak 25 gram dalam etanol 96%. Soxhletasi dilakukan sebanyak beberapa siklus dan dihentikan sampai pelarut berwarna bening dan jumlahnya berkurang. Hasil ekstraksi diuapkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan bentuk pasta. Ekstrak disuspensi dengan CMC-Na 0,1% sebelum disondekan¹⁵. Ekstrak diberikan dalam 3 dosis berdasarkan penelitian Tandi dkk (2016) dengan modifikasi yaitu 200 mg/kgBB (40 mg diencerkan dalam 0,5 ml air), 400 mg/kgBB (80 mg diencerkan dalam 1 ml air),

dan 800 mg/kgBB (160 mg diencerkan dalam 2 ml air)¹¹.

Pengorbanan Hewan Coba dan Preparasi Sampel

Hewan coba dianestesiakan dengan injeksi ketamin 0,2 ml intramuskuler, kemudian tikus dibedah secara vertikal mengikuti linea media untuk diambil organ ginjal. Ginjal dibilas menggunakan larutan *Sodium Chloride* (NaCl). Ginjal ditimbang dengan berat sekitar 100 mg. Sampel dibilas menggunakan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) kemudian dihancurkan menggunakan mortar dan ditambahkan cairan buffer SOD untuk pemeriksaan SOD dan cairan PBS untuk pemeriksaan MDA dengan perbandingan 1 mg : 10 ml. Sampel yang telah larut dimasukkan dalam tabung eppendorf dan dicentrifuge dalam 4000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan sampel.

Pengukuran Kadar SOD dan MDA Ginjal

Pengukuran SOD dan MDA ginjal menggunakan ELISA rat kit (*Elabscience, United States*). Larutan standar atau sampel sebanyak 50 µL dimasukan kedalam *well* kemudian ditambahkan *Biotinylated Detection Ab* sebanyak 50 µL, campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 45

menit kemudian diaspirasi. Larutan *wash buffer* ditambahkan sebanyak 350 µL dan dicuci 3 kali. Setelah itu, *HRP Conjugate Working Solution* 100 µL ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, diaspirasi dan dicuci 5 kali. Selanjutnya, *substrat reagent* ditambahkan sebanyak 90 µL dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. *Stop solution* ditambahkan sebanyak 50 µL. Nilai absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* pada $\lambda = 450$ nm. Dilakukan regresi linier dengan nilai absorbansi standar, kemudian nilai absorbansi sampel diukur menggunakan kurva standar dengan satuan ng/mL.

Analisa Statistik

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas, kemudian dilakukan uji beda menggunakan *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji *least significance different* (LSD). Hasil dinyatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan memakai software statistik SPSS.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini didapatkan hasil karakteristik hewan coba yang tercantum dalam **tabel 1**.

Tabel 1. Karakteristik sampel

n=5	KN	KDM	EEDGM 200 mg/KGBB	EEDGM 400 mg/KGBB	EEDGM 800 mg/KGBB
BB pra perlakuan (g)	242.8 ± 12.7 ^a	230.4 ± 11.5 ^a	246.8 ± 18.9 ^a	256.2 ± 32.20 ^a	253.0 ± 25.08 ^a
BB pasca perlakuan (g)	335.4 ± 34.9 ^a	279.2 ± 54.0 ^b	304.8 ± 52.0 ^c	324.8 ± 24.1 ^c	333.6 ± 29.8 ^a
Δ BB (g)	92.6 ± 27.6	48.8 ± 44.5	58.0 ± 48.9	68.6 ± 33.2	80.6 ± 10.7
Asupan Pakan (%)	89.6 ± 9.6 ^a	84,8 ± 7,7 ^a	77,6 ± 15,1 ^a	86,4 ± 9,21 ^a	81,6 ± 12,2 ^a
KGDP awal (mg/dL)	74.6 ± 3.0 ^a	85.0 ± 8.5 ^b	83.2 ± 5.3 ^b	87.6 ± 3.9 ^b	81.6 ± 3.2 ^b
KGDP pra perlakuan (mg/dL)	100.0 ± 7.9 ^a	182.6 ± 43.1 ^b	171.6 ± 11.6 ^b	172.2 ± 26.6 ^b	163.6 ± 9.9 ^b
KGDP pasca perlakuan (mg/dL)	111.6 ± 5.9 ^a	149.8 ± 11.1 ^b	130.6 ± 4.8 ^c	120.8 ± 11.4 ^d	113.8 ± 5.7 ^a
Δ KGDP (mg/dL)	11,6 ± 13,7	32.8 ± 34.3	41.0 ± 9.7	51.4 ± 33.0	49.8 ± 6.2

Keterangan:

Data dalam mean ± SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, BB: Berat Badan, Δ BB: selisih BB post treat dan pre treat, KGDP : Kadar Glukosa Darah Puasa, Δ KGDP: selisih KGDP post treat dan pre treat, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$).

Berdasarkan **Tabel 1**, berat badan pra perlakuan relatif tidak berbeda pada semua kelompok ($p > 0,05$). Berat badan pasca perlakuan pada kelompok KDM lebih rendah dibandingkan kelompok KN ($p < 0,05$). Sedangkan berat badan pasca perlakuan kelompok ekstrak DGM lebih tinggi dibandingkan kelompok KDM ($p < 0,05$).

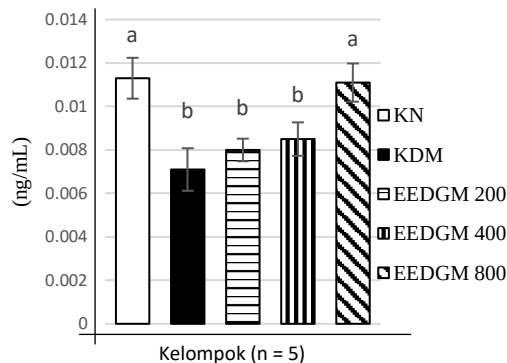
Persentase asupan pakan pada kelompok KDM lebih rendah dibandingkan kelompok KN. Kadar gula darah puasa (KGDP) pra perlakuan cenderung meningkat pada kelompok perlakuan setelah induksi DTLF dan STZ dibandingkan kelompok KN ($p < 0,05$). KGDP pasca perlakuan

pada kelompok ekstrak DGM lebih rendah dibandingkan kelompok KDM ($p < 0,05$).

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah terhadap Kadar SOD Ginjal Tikus Model Diabetes Melitus

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap kadar SOD ginjal tikus model diabetes dapat dilihat pada **Gambar 1**. Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ menurunkan kadar SOD ginjal secara signifikan dengan persentase sekitar 40% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EEDGM dosis 800 mg/kgBB secara signifikan dapat menghambat penurunan SOD ginjal

tikus model DM dengan persentase sekitar 60% dibandingkan KDM ($p < 0,05$) hingga tidak berbeda dengan KN ($p > 0,05$). Sedangkan pada dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tidak signifikan dalam menghambat penurunan SOD ginjal dibandingkan KDM ($p > 0,05$).

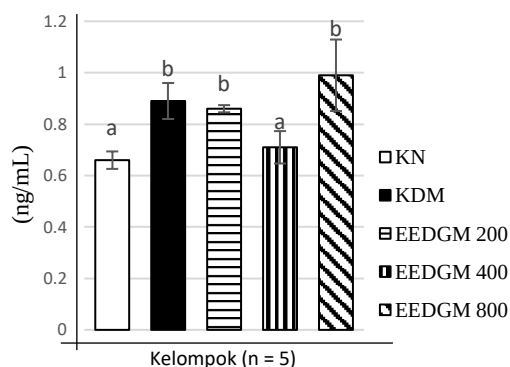


Gambar 1. Histogram kadar SOD ginjal tikus model diabetes yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan:

Data dalam mean $\pm$ SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM 200,400,800: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB, huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah terhadap Kadar MDA Ginjal Tikus Model Diabetes Melitus



Gambar 2. Histogram kadar MDA ginjal tikus model diabetes yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan:

Data dalam mean $\pm$ SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM 200,400,800: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB, huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap kadar MDA ginjal tikus model diabetes dapat dilihat pada **Gambar 2**. Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ dapat meningkatkan kadar MDA ginjal

secara signifikan dengan persentase sekitar 30% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EEDGM dosis 400 mg/kgBB secara signifikan dapat menghambat peningkatan MDA ginjal tikus model DM dengan persentase sekitar 20% dibandingkan KDM ($p < 0,05$) hingga tidak berbeda dengan KN ($p > 0,05$). Sedangkan pada dosis 200 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB tidak signifikan dalam menghambat peningkatan MDA ginjal dibandingkan KDM ($p > 0,05$).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Sprague dawley* jantan berusia 4-6 minggu. Pemilihan galur *Sprague dawley* dikarenakan tikus jenis ini memiliki kemampuan yang baik dalam beradaptasi dengan lingkungan dan mudah dalam perawatannya. Tikus jantan dari galur ini dipilih untuk penelitian karena tidak berpengaruh pada siklus hormonal¹⁶.

Pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan (BB) pasca perlakuan dibandingkan kelompok kontrol diabetes melitus. Hal ini diduga karena terdapatnya senyawa aktif pada EEDGM seperti alkaloid dan flavonoid. Senyawa alkaloid pada EEDGM diduga mampu meningkatkan berat badan dengan cara meningkatkan sekresi insulin dan flavonoid juga dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin. Peningkatan sekresi insulin dan sensitivitas insulin dapat meningkatkan pemasukan glukosa kedalam sel sehingga lipolisis dihambat¹¹. Sedangkan BB pasca perlakuan pada KDM berbeda signifikan lebih rendah dibandingkan dengan KN. Hal ini disebabkan karena induksi DTLF dan STZ memicu terjadinya resistensi insulin dan kerusakan sel β pankreas. Kondisi ini menyebabkan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel sehingga meningkatkan terjadinya lipolisis yang menyebabkan BB pasca perlakuan pada KDM lebih rendah dibandingkan KN^{17,18}. Pada hasil pengukuran asupan pakan didapatkan penurunan nafsu makan pada KDM dibandingkan KN. Hal tersebut diduga karena komponen lemak dalam pakan sulit dicerna sehingga memperlama pengosongan lambung. Hal ini menyebabkan rasa kenyang sehingga terjadi penurunan asupan pakan pada KDM¹⁹.

Kadar Glukosa Darah Puasa (KGDP) pasca perlakuan pada KDM cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan KN. Hal ini disebabkan karena induksi dari DTLF dan STZ pada KDM memicu terjadinya resistensi insulin dan kerusakan sel β pankreas sehingga memicu peningkatan KGDP pasca perlakuan. Hal ini sejalan dengan penelitian Vatandoust dkk (2018) bahwa induksi DTLF selama 10 minggu ditambah pemberian STZ diminggu ke 4 meningkatkan kadar glukosa darah dibandingkan dengan KN²⁰. Pemberian EEDGM secara signifikan dapat menurunkan KGDP dibandingkan dengan

KDM. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa aktif dari daun gedi merah seperti alkaloid dan flavonoid yang memicu peningkatan sekresi insulin melalui regenerasi sel β pankreas dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin sehingga meningkatkan penyerapan glukosa ke dalam sel dan menurunkan KGDP pada tikus model DM¹¹.

Pengaruh Pemberian DTLF dan STZ terhadap Kadar SOD dan MDA Ginjal

Pada kelompok diabetes melitus didapatkan penurunan kadar SOD ginjal dan peningkatan kadar MDA ginjal dibandingkan kelompok kontrol normal. Hal ini disebabkan oleh induksi DTLF dan STZ. Pemberian diet tinggi lemak (DTL) dalam jumlah besar dan durasi lama akan meningkatkan *Free Fatty Acid* (FFA) dalam plasma. Mekanisme dari induksi diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan kadar FFA dalam plasma dan menyebabkan terjadinya penurunan ambilan glukosa pada otot yang kemudian digantikan oleh FFA. Selanjutnya, FFA didalam intrasel akan mengalami metabolisme asam lemak seperti *diasilgliserol* (DAG) dan lemak asetil KoA. Substrat tersebut nantinya akan menyebabkan aktivasi dari *serin/treonin kinase cascade* pada substrat reseptor insulin (IRS-1 dan IRS-2) yang menyebabkan penurunan sensitivitas pada reseptor insulin dan aktivasi dari PI-3 kinase yang mengakibatkan glukosa transport menurun dan memicu terjadinya resistensi insulin¹⁷.

Induksi diet tinggi fruktosa (DTF) menyebabkan peningkatan metabolisme hepar melalui penyerapan glukosa yang terganggu. Peningkatan konsentrasi fruktosa ini nantinya akan menyebabkan terjadinya resistensi insulin yang memperberat kerja dari GLUT-5. Melalui jalur fruktosa di hepar, fruktosa diubah menjadi trigliserida sehingga menyebabkan akumulasi TG yang akan berikatan dengan kilomikron yang merupakan pembawa *Very Low Density Lipid* (VLDL) dan meningkatkan VLDL. Peningkatan VLDL mengakibatkan terjadinya lipolisis oleh lipoprotein lipase sehingga meningkatkan *Free Fatty Acid* (FFA). Peningkatan FFA menyebabkan akumulasi lipid pada jaringan dan meningkatkan serin tirosin kinase yang akan mengganggu sinyal pada reseptor insulin dan menurunkan jumlah reseptor insulin di hati, lemak dan otot. Hal tersebut akan memperparah resistensi insulin dan hiperglikemia^{17,21}.

Pada pemberian streptozocin (STZ) menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas sehingga menurunkan sintesis dan sekresi insulin. Pada DNA, induksi STZ yang nantinya akan mempengaruhi *metylnitrosureamoeity* (O 6 guanin) yang menyebabkan terjadinya alkilasi pada DNA. Selanjutnya akan terjadi aktivasi dari *Poly (ADP-ribose) Polymerase* (PARP) yang berperan sebagai regulator DNA repair yang nantinya PARP ini akan

menyebabkan penurunan NAD⁺ dan ATP yang memiliki peran dalam rusaknya sel β pankreas¹⁸.

Hiperglikemia pada DM akan meningkatkan ROS. Hal ini disebabkan karena kondisi hiperglikemia dapat memicu terjadinya *hyperglycemic pseudohypoxia*⁵. *Hyperglycemic pseudohypoxia* merupakan kondisi menurunnya kapasitas penggunaan oksigen di sel disebabkan oleh penurunan konsentrasi nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), sehingga menyebabkan akumulasi NADH yang berujung pada ketidakseimbangan redox NADH/NAD di sel dan memicu peningkatan ROS⁵. Efek lain yang ditimbulkan hiperglikemia adalah penghambatan aktivitas enzim glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)⁶. Enzim G6PD merupakan katalisator reduksi NADP menjadi NADPH, selanjutnya NADPH berperan penting dalam regenerasi antioksidan⁶. Penghambatan enzim G6PD akan berakibat pada menurunnya regenerasi antioksidan tubuh, salah satunya *superoxide dismutase* (SOD)⁶. Peningkatan produksi ROS memicu SOD untuk mengkatalisis radikal anion superoksida sehingga terjadi penurunan kadar SOD²². SOD merupakan antioksidan primer yang berfungsi untuk menangkap radikal anion superoksida (O_2^-) yang dihasilkan dari proses oksidasi biologis²³. SOD dikenal sebagai antioksidan enzimatis dengan kofaktor ion logam seperti tembaga (Cu), seng (Zn), dan mangan (Mn). SOD berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksosida dapat berubah menjadi radikal hidroksil dengan bantuan Fe (reaksi fenton)²⁴. SOD berada didalam sitosol dan mitokondria²⁵.

Induksi DTLF dan STZ akan memicu terjadinya hiperglikemia dan akan meningkatkan pembentukan ROS seperti penjelasan sebelumnya. Peningkatan produksi ROS menimbulkan kondisi stres oksidatif, akibat tidak diimbangi dengan kapasitas antioksidan yang memadai dalam tubuh. Keadaan stress oksidatif memicu peroksidasi lipid oleh radikal hidroksil dan menghasilkan produk *malondialdehyde* (MDA)²⁶. MDA merupakan produk hasil dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan penyatuan radikal bebas hasil dari reaksi fenton hidrogen peroksida yaitu radikal hidroksil dengan asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi metilen. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus-menerus dan memicu peroksidasi lebih lanjut sehingga berpotensi sangat merusak²⁴.

Pada penelitian ini terdapat beberapa kekurangan seperti variabel yang digunakan belum mewakili semua faktor yang mempengaruhi dalam penelitian ini. Salah satu faktor tersebut adalah penilaian resistensi insulin sebagai marker untuk menilai kondisi diabetes melitus tipe 2. Hal tersebut menjadi kekurangan dalam penelitian ini karena marker tersebut sebagai penilaian bahwa hewan coba

yang digunakan telah memiliki kondisi diabetes melitus tipe 2 atau tidak.

Pengaruh EEDGM Pada Kadar SOD Ginjal Tikus Model Diabetes Melitus

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 800 mg/kgBB menghambat penurunan kadar SOD ginjal tikus model DM. Efek tersebut diduga berhubungan dengan kandungan senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan dan antidiabetik. Senyawa aktif polifenol berperan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi stres oksidatif dengan cara mencegah terjadinya rantai perubahan anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok atom hidroksil (OH^-)¹². Senyawa flavonoid juga dapat bersifat sebagai antioksidan yang bekerja sebagai *scavenger* radikal hidroksil, sehingga menurunkan jumlah radikal bebas^{12,27}. Selain itu, pada daun gedi merah mempunyai zat aktif quercetin yang diduga mempunyai efek antioksidan dengan mekanismenya sebagai *scavenger* atau memotong reaksi oksidasi dari radikal bebas²⁸. Penurunan radikal bebas akan menekan penggunaan antioksidan endogen seperti SOD ginjal sehingga kadar SOD dapat dipertahankan.

Selain sebagai antioksidan, ekstrak etanol daun gedi merah berpotensi sebagai antidiabetik yang diperankan oleh senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin^{12,29}. Senyawa flavonoid berperan sebagai antidiabetik melalui mekanisme aktivasi reseptor insulin²⁹. Senyawa alkaloid bekerja dengan mekanisme regenerasi sel β pankreas yang mengalami kerusakan, sehingga meningkatkan produksi insulin dan memperbaiki kondisi hiperglikemia. Saponin memperbaiki kondisi hiperglikemia dengan cara menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim saluran pencernaan yang dapat mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Tanin berfungsi sebagai penghelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga menghambat penyerapan glukosa¹². Selain itu, pada daun gedi merah mempunyai zat aktif quercetin dan myricetin yang diduga mempunyai efek antidiabetik dengan menghambat enzim alfa glukosidase³⁰. Hal ini sejalan dengan penelitian Marcedes dkk (2017) bahwa ekstrak DGM mampu mengendalikan kadar glukosa darah paska induksi DM. Inhibisi dari kondisi hiperglikemia akan menekan produksi radikal bebas sehingga menekan pemakaian SOD sebagai pengkatalis anion superoksida dan menghambat penurunan kadar SOD ginjal. Hal ini sejalan dengan penelitian satu pohon dengan marker SOD aorta yang dilakukan oleh Sanjaya, 2020 (*unpublished*) bahwa ekstrak etanol daun gedi merah memiliki potensi antioksidan dan antidiabetik sehingga mampu menghambat penurunan kadar SOD aorta tikus model DM.

Pada Pada penelitian ini, pemberian ekstrak DGM dosis 800 mg/kgBB memiliki efek

menghambat penurunan SOD ginjal lebih kuat dibandingkan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Hal ini sesuai dengan teori farmakologi, yaitu semakin tinggi dosis yang diberikan semakin tinggi pula efek yang diberikan. Pemberian ekstrak DGM 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan terhadap kadar SOD ginjal dibandingkan KDM. Hal ini diduga karena pemberian dosis herbal yang kurang sehingga menghasilkan aktivitas biologis yang rendah untuk menghambat penurunan dari SOD ginjal. Selain itu, diduga karena durasi pemberian ekstrak DGM yang tergolong singkat atau dosis yang kurang serta interval antar dosis herbal terlalu dekat sehingga dengan pemberian dosis bertingkat belum mampu untuk menghambat penurunan kadar SOD ginjal yang disebabkan peningkatan produksi ROS^{27,31}.

Pengaruh EEDGM Pada Kadar MDA Ginjal Tikus Model Diabetes Melitus

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/kgBB menghambat peningkatan kadar MDA ginjal tikus model DM. Kandungan senyawa aktif dari daun gedi merah diduga berperan dalam menghambat peningkatan dari MDA ginjal tikus model diabetes melitus. Senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun gedi merah memiliki efek antioksidan yaitu dengan mekanisme menangkal radikal hidroksil sehingga menghambat terjadinya peroksidasi lipid^{12,27}. Flavonoid juga berperan sebagai pengkelat ion Fe^{2+} . Ion Fe^{2+} menjadi pemicu utama pembentukan ROS dan dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid. Reaksi ion Fe^{2+} dengan hidrogen peroksida akan membentuk radikal hidroksil dan menginisiasi terjadinya peroksidasi lipid²⁴. Proses ini dapat ditunda dengan mengkelat ion Fe^{2+} ³².

Selain itu, sesuai seperti penjelasan sebelumnya bahwa efek yang dihasilkan dari flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin daun gedi merah dalam memperbaiki keadaan hiperglikemia berperan penting dalam menghambat terbentuknya radikal bebas. Keadaan ini menghambat terjadinya stres oksidatif sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid akibat radikal bebas yang menghasilkan MDA^{7,11}. Pemberian EEDGM dosis 400 mg/kgBB dapat menghambat peningkatan MDA ginjal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Khalidiyah, 2020 (*unpublished*) bahwa kandungan senyawa aktif ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetik yang dapat menghambat terjadinya peroksidasi lipid dan menghambat peningkatan MDA jantung.

Pada Pada penelitian ini, pemberian ekstrak DGM dosis 400 mg/kgBB lebih kuat menghambat peningkatan MDA dibandingkan dosis 200 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Hal tersebut menyebabkan kesan *non-dependent dose* karena tidak adanya peningkatan efek yang disertai dengan peningkatan dosis. Hal ini diduga karena terdapat senyawa multikomponen pada daun gedi merah yang

memiliki berbagai mekanisme kerja sehingga peningkatan dosis tidak disertai peningkatan efek.

Pada penelitian ini, dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda dalam menghambat peningkatan MDA dibandingkan kelompok KDM. Hal ini diduga, seperti penjelasan sebelumnya, bahwa lama pemberian ekstrak DGM yang tergolong singkat atau dosis herbal yang kurang belum mampu untuk menghambat peningkatan kadar MDA ginjal yang disebabkan peningkatan produksi ROS^{27,31}. Pada dosis 800 mg/kgBB juga ditemukan tidak berbeda dalam menghambat peningkatan MDA dibandingkan kelompok KDM. Hal ini diduga karena kandungan flavonoid ekstrak DGM pada dosis 800 mg/kgBB bersifat pro-oksidasi serta mengalami auto-oksidasi menjadi radikal bebas dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Mekanisme auto-oksidasi tersebut disebabkan oleh penghambatan enzim *succinoxidase* di mitokondria sehingga terbentuk radikal bebas seperti radikal hidroksil dan terjadi peroksidasi lipid^{32,33}. Hal tersebut juga didukung oleh penelitian Nurasidah, 2020 (*unpublished*), dimana pemberian ekstrak DGM dosis 800 mg/kgBB mengalami pro-oksidasi sehingga menurunkan kemampuan ekstrak dalam menghambat nekrosis sel epitel glomerulus. Hal ini diduga akibat peroksidasi lipid membran dengan produk MDA sehingga membran sel mudah mengalami kerusakan. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian dengan dosis dibawah 800 mg/kgBB untuk mencari dosis optimal pada herbal uji.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dan pembahasan di atas maka dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Pemberian DTLF dan STZ menurunkan kadar SOD dan meningkatkan kadar MDA ginjal tikus model DM
2. Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 800 mg/kgBB menghambat penurunan kadar SOD ginjal tikus model DM.
3. Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 400 mg/kgBB menghambat peningkatan kadar MDA ginjal tikus model DM.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan bahwa :

1. Melakukan penelitian terkait pemberian dosis ekstrak daun gedi merah terhadap kadar SOD dan MDA dibawah dosis 800 mg/kgBB.
2. Melakukan penelitian terkait efek daun gedi merah pada tikus model DM tipe 2 dengan mengukur resistensi insulin (HOMA IR).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang karena telah membantu pendanaan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] World Health Organization. Global report on diabetes. 2016.
- [2] Indonesia PE. Pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia. **Pb. Perkeni**. 2015.
- [3] Satria, Decroli E, Afriwardii A. Faktor risiko pasien nefropati diabetik yang dirawat di bagian penyakit dalam RSUP Dr. M. Djamil Padang. **Jurnal Kesehatan Andalas**. 2018 Jun 10;7(2):149-53.
- [4] Reidy K, Kang HM, Hostetter T, Susztak K. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease. **The Journal of clinical investigation**. 2014 Jun 2;124(6):2333-40.
- [5] Song J, Yang X, Yang LJ. Role of pseudohypoxia in the pathogenesis of type 2 diabetes. **Hypoxia**. 2019;7:33.
- [6] Zhang Z, Liew CW, Handy DE, Zhang Y, Leopold JA, Hu J, Guo L, Kulkarni RN, Loscalzo J, Stanton RC. High glucose inhibits glucose 6 phosphate dehydrogenase, leading to increased oxidative stress and β -cell apoptosis. **The FASEB Journal**. 2010 May;24(5):1497-505.
- [7] Nurfadilah LD, Nurainiawati SA, Agustini SM. Pengaruh pemberian minyak deep frying terhadap perubahan histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar). **Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga**. 2017 Mar 20;9(1):54-8.
- [8] Fauziyah AN, Hermayanti D. Penurunan stres oksidatif setelah pemberian ekstrak biji jintan hitam (*Nigella Sativa* L.) pada tikus model fibrosis hati. **Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga**. 2018 Dec 27;14(2):81-6.
- [9] Fattah YR, Kamu VS, Runtuwene MR, Momuat LI. Identifikasi barcode tumbuhan gedi merah (*Abelmoschus manihot* L. medik) dan gedi hijau (*Abelmoschus moschatus*) berdasarkan gen matk. **Jurnal MIPA**. 2014;3(2):120-4.
- [10] Liu Y, Lai X, Ling X, Zhao Y, Cui J. Interactions between thrombin with flavonoids from *Abelmoschus manihot* (L.) Medicus by CZE. **Chromatographia**. 2006 Jul 1;64(1-2):45-50.
- [11] Tandi J, Muti'ah HZ, Yuliet Y, Yusriadi Y. Efektivitas ekstrak daun gedi merah terhadap glukosa darah, malondialdehid, 8-hidroksi-Deoksiguanosin, insulin tikus diabetes.

- Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry.** 2016 Dec 31;3(4):264-76.
- [12] Murwani S, Ali M, Muliarta K. Diet aterogenik pada tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis. **Jurnal Kedokteran Brawijaya.** 2013 Apr 18;22(1):6-9.
 - [13] Dupas J, Goanvec C, Feray A, Guernec A, Alain C, Guerrero F, Mansourati J. Progressive induction of type 2 diabetes: effects of a reality-like fructose enriched diet in young Wistar rats. **PLoS One.** 2016 Jan 22;11(1):e0146821.
 - [14] Husna F, Suyatna FD, Arozal W, Purwaningsih EH. Model hewan coba pada penelitian diabetes. **Pharmaceutical Sciences & Research.** 2019;6(3):1.
 - [15] Prasetyo B, Purwadi, Rosyidi D. Penambahan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) Pada Pembuatan Minuman Madu Sari Buah Jambu Merah (*Psidium guajava*) ditinjau dari pH, Viskositas, Total Kapang dan Mutu Organoleptik. **Jurnal Brawijaya.** 2014.
 - [16] Ningsih D, Rejeki ES, Ekowati D. Aktivitas Antidiabetes Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) pada Tikus Putih Jantan. **Jurnal farmasi Indonesia.** 2009 Nov 30;6(3):12-8.
 - [17] Amin RH, Mathews ST, Camp HS, Ding L, Leff T. Selective activation of PPAR γ in skeletal muscle induces endogenous production of adiponectin and protects mice from diet-induced insulin resistance. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.** 2010 Jan;298(1):E28-37.
 - [18] Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. **Journal of diabetes & metabolic disorders.** 2013 Dec 1;12(1):60.
 - [19] Schuff-Werner P, Fenger S, Kohlschein P. Role of lipid apheresis in changing times. **Clinical research in cardiology supplements.** 2012 Jun 1;7(1):7-14.
 - [20] Vatandoust N, Rami F, Salehi AR, Khosravi S, Dashti G, Eslami G, Momenzadeh S, Salehi R. Novel high-fat diet formulation and streptozotocin treatment for induction of prediabetes and type 2 diabetes in rats. **Advanced Biomedical Research.** 2018;7.
 - [21] Rutledge AC, Adeli K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. **Nutrition reviews.** 2007 Jun 1;65(suppl_1):S13-23.
 - [22] Li S, Hong M, Tan HY, Wang N, Feng Y. Insights into the role and interdependence of oxidative stress and inflammation in liver diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity.** 2016 Oct;2016.
 - [23] Rahmawati G, Rachmawati FN, Winarsii H. Aktivitas superoksida dismutase tikus diabetes yang diberi ekstrak batang kapulaga dan glibenklamid. **Scripta Biologica.** 2014 Sep 1;1(3):197-201.
 - [24] El-Beltagi HS, Mohamed HI. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca.** 2013 May 28;41(1):44-57.
 - [25] Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. **Jurnal Biotek Medisiana Indonesia.** 2014;3(2):59-68.
 - [26] Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative medicine and cellular longevity.** 2014 Oct; 2014.
 - [27] Mercedes A. Aktivitas antidiabetes kombinasi ekstrak daun gedhi merah dan daun semak bunga putih tikus induksi streptozotocin. **Farmakologika: Jurnal Farmasi.** 2017;14(2):159-66.
 - [28] Salamah N, Widyasari E. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2, 2'-difenil-1-pikrilhidrazil. **Pharmaciana.** 2015;5(1):25-34.
 - [29] Hussain SA, Marouf BH. Flavonoids as alternatives in treatment of type 2 diabetes mellitus. **Academia journal of medicinal plants.** 2013;1(2):31-6.
 - [30] Fitriani NE, Akhmad SA, Lestariana W. Efek Kuersetin Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Pada Tikus Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Diinduksi Dengan Streptozotocin-Nicotinamide. **Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.** 2014 Aug 6;6(2):103-10.
 - [31] Waris R, AM ED, Najib A. Radical scavenging activity of leaf extract of edible Hibiscus (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) using 1, 1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil (DPPH). **International Journal of PharmTech Research.** 2016;9(6):343-7.
 - [32] Salehi B, Azzini E, Zucca P, Maria Varoni E, V Anil Kumar N, Dini L, Panzarini E, Rajkovic J, Valere Tsouh Fokou P, Peluso I, Prakash Mishra A. Plant-derived bioactives and oxidative stress-related disorders: a key trend towards healthy aging and longevity promotion. **Applied Sciences.** 2020 Jan;10(3):947.
 - [33] Skibola CF, Smith MT. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. **Free radical biology and medicine.** 2000 Aug 1;29(3-4):375-83.